Partenariat *médecine/sciences* - Écoles doctorales - Masters (69)

L'actualité scientifique vue par les étudiants du Master 2 Biologie Moléculaire et Cellulaire, parcours Biologie de la peau, Université Claude Bernard, Lyon 1

› Les étudiant(e)s du M2 Biologie de la Peau du Master Biologie Moléculaire et Cellulaire de l'Université Lyon 1 prennent la plume.

Dans le cadre du module *Communication scientifique et littérature*, coordonné par Béatrice Horard et Ludivine Walter, maîtresses de conférences à l'Université Claude Bernard Lyon 1, les étudiants du parcours M2 Biologie de la Peau du Master Biologie Moléculaire et Cellulaire de Lyon ont été initiés à l'écriture scientifique. Après une phase préparatoire sur la veille bibliographique et une sensibilisation à la déontologie en sciences, chaque étudiant, guidé par les enseignantes, a rédigé une nouvelle sur un sujet de son choix.

Le parcours M2 Biologie de la Peau est une formation unique en France. Il forme des spécialistes en recherche cutanée destinés à intégrer les secteurs de la recherche et développement hospitaliers, ainsi que l'industrie dermo-cosmétique et dermo-pharmaceutique. ‹

Équipe pédagogique

Béatrice Horard (beatrice.horard@univ-lyon1.fr)
Ludivine Walter (ludivine.walter@univ-lyon1.fr)
Nathalie Arband (Coordinatrice formations BU Sciences)
Christelle Cheval (Formatrice BU Sciences)
Laurianne Pillet (Formatrice BU Sciences)
Christophe Soulage (PU Lyon1)

Série coordonnée par Claire Deligne

NOUVELLE

Rôle de KLF5 dans l'adhérence cellulaire et nouvelles pistes thérapeutiques pour le pemphigus vulgaire

Paula Pernea

Master Biologie de la peau, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France.
paula.pernea@etu.univ-lyon1.fr

Les desmogléines en péril : au cœur du pemphigus vulgaire

L'épiderme humain agit comme une barrière essentielle contre les agressions extérieures. Cette barrière est maintenue par l'adhérence des kératinocytes grâce aux desmosomes. Les desmosomes sont des structures spécialisées qui assurent la cohésion des cellules sous stress mécanique. Elles sont composées de cadhérines spécifiques, telles que les desmogléines (DSG1-4). Dans le pemphigus vulgaire, une maladie auto-immune, des autoanticorps ciblent les desmogléines (DSG1-DSG3) [1]. Cela entraîne une perte d'adhérence intercellulaire, ou acantholyse, et provoque des lésions cutanées bulleuses.

Les traitements actuels reposent principalement sur l'immunosuppression, associant corticothérapie et rituximab, un anticorps monoclonal déplétant les lymphocytes B via le CD20. Cependant, ces traitements présentent des limites significatives, avec un taux de rechute de 24 à 65 % sous rituximab [2]. Bien qu'efficaces pour réduire la production des autoanticorps, ils n'agissent pas directement sur la restauration des desmosomes ni sur la régulation trans-

criptionnelle de DSG3. Par conséquent, il est crucial d'identifier de nouvelles approches thérapeutiques ciblant les mécanismes sous-jacents à la perte d'adhérence intercellulaire.

Un nouveau régulateur de l'adhérence intercellulaire, KLF5 (*Kruppel-like factor 5*), a été récemment identifié [3]. En modulant l'expression de KLF5, il serait possible d'inverser les effets délétères des autoanticorps, offrant ainsi une nouvelle voie pour traiter cette maladie [4].

KLF5, un régulateur essentiel de l'adhérence intercellulaire

Pour identifier les régulateurs transcriptionnels responsables de l'adhérence intercellulaire, les chercheurs ont utilisé un criblage CRISPR/Cas9 à l'échelle du génome sur la lignée cellulaire HaCaT. Ces cellules, dérivées de kératinocytes humains, sont immortalisées et conservent les propriétés de prolifération et de différenciation des kératinocytes basaux *in vivo*, ce qui en fait un modèle fréquemment utilisé pour les études dermatologiques. Cependant, comme toutes les lignées cellulaires, les HaCaT présentent des limites. Leur immortalisation s'accompagne de mutations qui peuvent altérer leur prolifération, leur vieillissement et leur stabilité génétique. Bien qu'elles forment une peau d'apparence normale *in vitro*, ces altérations pourraient affecter leur réponse aux stimuli et limiter leur capacité à reproduire fidèlement les comportements des kératinocytes primaires dans un contexte pathologique. Par conséquent, les résultats obtenus avec ce modèle doivent être interprétés avec précaution et idéalement complétés par des approches utilisant des cultures primaires ou d'autres systèmes biologiques.

Dans ce criblage, les cellules HaCaT ont été modifiées pour exprimer Cas9 de manière stable, garantissant une édition génomique efficace. Elles ont ensuite été transduites avec une bibliothèque de sgRNA ciblant 19 114 gènes, permettant la suppression individuelle de chaque gène du génome humain. L'expression de DSG3 à la surface des cellules, utilisé comme marqueur de l'adhérence intercellulaire, a permis de trier les cellules en deux populations distinctes par cytométrie de flux : DSG3low (faibles niveaux de DSG3) et DSG3high (niveaux élevés). Ce choix de DSG3 comme marqueur principal peut toutefois être discuté. Des études montrent que des anticorps dirigés contre des antigènes de kératinocytes autres que les désmogléines 1 et 3 peuvent également induire des lésions similaires à celles observées dans le pemphigus vulgaire [5]. Cela suggère que l'altération de DSG3, bien qu'importante, n'est pas toujours indispensable pour déclencher cette pathologie, ce qui pourrait limiter la portée des conclusions fondées uniquement sur ce marqueur.

Parmi les cibles identifiées dans leur criblage, les auteurs se sont concentrés sur KLF5, un régulateur transcriptionnel capable de se lier directement au promoteur de DSG3. Cette interaction a été confirmée par des expériences de purification par affinité et de ChIP-qPCR, qui ont montré que KLF5 module spécifiquement l'activité transcriptionnelle de DSG3 en se liant à son promoteur.

Les invalidations du gène de KLF5 dans les kératinocytes HaCaT ont montré une diminution significative des niveaux de DSG3 à la membrane cellulaire, corroborant son rôle clé dans le maintien de l'adhérence intercellulaire. Ces observations *in vitro* ont été validées dans des échantillons de patients atteints de pemphigus vulgaire, chez lesquels une réduction de KLF5 était associée à une perte d'adhérence cellulaire. Ces résultats mettent en lumière l'importance de KLF5 en tant que régulateur spécifique de DSG3 et en font une cible prometteuse pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques.

Inhibition de HDAC3, une nouvelle approche thérapeutique dans le pemphigus

Les histones désacétylases (HDAC) régulent l'activité de KLF5, un facteur de transcription clé pour l'expression de DSG3. Des études antérieures sur HDAC1, une enzyme apparentée, ont montré que les HDAC régulent les facteurs de transcription comme KLF5 par plusieurs mécanismes [6-8]. Elles limitent la fixation de KLF5 aux promoteurs de ses gènes cibles, réduisant ainsi son activité transcriptionnelle. De plus, elles inhibent son interaction avec des coactivateurs essentiels, tels que p300, une acétylase connue pour renforcer son activité transcriptionnelle. Enfin, même lorsque KLF5 reste lié à l'ADN, l'action des HDAC diminue son efficacité à activer les promoteurs en interférant directement avec ces processus clés [6].

Dans l'étude de Franz *et al.*, il était initialement supposé que HDAC3 agissait de manière similaire pour réguler l'activité de KLF5 dans le pemphigus vulgaire, notamment via une modification de son état d'acétylation. Cependant, les résultats expérimentaux ont révélé une complexité inattendue dans ce mécanisme.

Pour tester l'hypothèse d'un rôle direct de HDAC3 dans l'acétylation de KLF5, les chercheurs ont traité des kératinocytes HaCaT avec des PV-IgG (immunoglobulines G issues de patients avec pemphigus vulgaire). Les analyses par western blot et protéomique n'ont pas montré de changements significatifs dans l'acétylation de KLF5, suggérant que ce mécanisme n'est pas altéré par les PV-IgG. Des mutants de KLF5 dépourvus de sites d'acétylation ont révélé une perte d'adhérence intercellulaire, indiquant que l'acétylation de KLF5 joue un rôle positif dans l'adhérence cellulaire. Toutefois, les PV-IgG n'affectent pas directement cet état d'acétylation.

Les auteurs ont identifié un mécanisme alternatif : HDAC3 réprime la transcription de KLF5 en se liant directement à son promoteur. Cette interaction est amplifiée en présence de PV-IgG, réduisant ainsi les niveaux d'expression de KLF5 et, par conséquent, de DSG3. Cette régulation est médiée par la voie p38MAPK, dont l'inhibition par un inhibiteur spécifique des isoformes α et β de p38MAPK a bloqué l'activation de HDAC3 et la perte de DSG3.

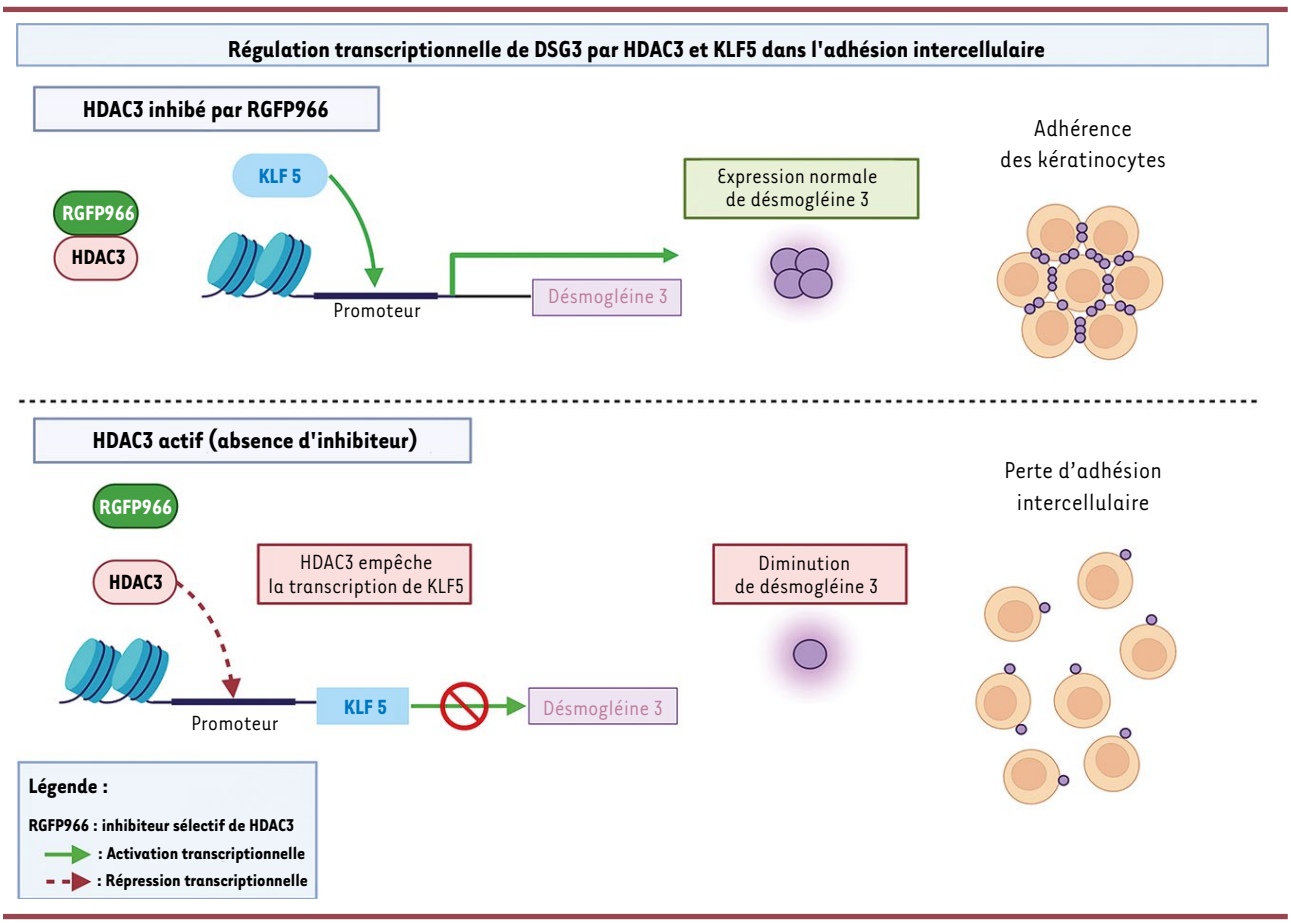

Figure 1. Régulation transcriptionnelle de DSG3 par HDAC3 et KLF5 dans l'adhérence intercellulaire. Partie inférieure : les autoanticorps de patients (PV-IgG) activent la voie p38MAPK dans les kératinocytes, induisant une augmentation des niveaux de HDAC3. HDAC3 se lie alors au promoteur de *KLF5*, inhibant sa transcription. La diminution de KLF5 entraîne une baisse de l'expression de *DSG3*, et par extension, une perte de l'adhérence intercellulaire. Partie supérieure : l'inhibition spécifique de HDAC3 par RGFP966 permet de restaurer l'expression de *KLF5* et *DSG3*, et ainsi l'adhérence des kératinocytes. Ce schéma illustre une voie pathogénique clé et met en évidence un axe thérapeutique potentiel ciblant HDAC3.

Enfin, l'inhibition sélective de HDAC3 avec RGFP966, un inhibiteur spécifique de HDAC3 appartenant à la classe des hydroxamates, a restauré les niveaux de KLF5 et DSG3 dans les kératinocytes traités par PV-IgG. Ces résultats ont été validés *in vivo* dans des modèles murins de pemphigus vulgaire : l'inhibition sélective de HDAC3 a réduit les lésions cutanées et restauré l'adhérence intercellulaire (*Figure 1*). Ces données soulignent le potentiel thérapeutique de cette approche.

HDAC3 et KLF5 : promesses et défis d'une stratégie ciblée

Les résultats de l'étude de Franz *et al.* apportent un éclairage novateur sur les mécanismes de l'adhérence intercellulaire dans le pemphigus vulgaire. Ils identifient KLF5 comme un régulateur essentiel de l'expression de DSG3 via une régulation transcriptionnelle dépendante de HDAC3, plutôt qu'un mécanisme lié à l'acétylation de KLF5. Cette découverte propose une nouvelle stratégie thérapeutique basée sur l'inhibition sélective de HDAC3, offrant une solution prometteuse pour réduire les taux de rechutes observés sous traitement immunosuppresseur traditionnel. Les travaux *in vitro* et *in vivo* montrent que l'inhibition de HDAC3 restaure l'adhérence intercellulaire et diminue les lésions cutanées, renforçant ainsi le potentiel clinique de cette stratégie.

Toutefois, l'inhibition sélective de HDAC3 pourrait avoir des conséquences au-delà de l'adhérence intercellulaire [9]. HDAC3 régule de nombreux processus cellulaires, tels que la transcription génique et la stabilité épigénétique. Son inhibition pourrait perturber des fonctions vitales dans d'autres tissus. Si le composé RGFP966 a montré une spécificité prometteuse, des études supplémentaires sont nécessaires pour évaluer ses effets à long terme et son profil de sécurité chez des patients présentant des comorbidités.

La régulation de l'adhérence intercellulaire est un processus complexe impliquant de nombreux facteurs [10]. Bien que KLF5 et HDAC3 jouent un rôle cen-

tral, leur impact pourrait être modulé par d'autres mécanismes cellulaires ou voies de signalisation. Des études plus approfondies, notamment au travers de cribles génétiques, sont nécessaires pour explorer les interactions sous-jacentes à la cohésion cellulaire dans le pemphigus. L'identification de nouveaux acteurs moléculaires dans ces cascades pourrait améliorer notre compréhension et ouvrir la voie à des perspectives thérapeutiques encore plus ciblées.

En somme, l'étude de Franz *et al.* représente une avancée majeure, tout en mettant en lumière la complexité des mécanismes d'adhérence intercellulaire. Le défi futur résidera dans la traduction de ces découvertes en stratégies cliniques sûres et efficaces, tout en élucidant les interactions moléculaires sous-jacentes pour un traitement plus précis du pemphigus vulgaire. ◊

The role of KLF5 in cell adhesion and novel therapeutic approaches for pemphigus vulgaris

LIENS D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Waschke J. The desmosome and pemphigus. *Histochem Cell Biol* 2008 ; 130 : 21-54.
2. Miše J, Jukić IL, Marinović B. Rituximab - Progress but Still Not a Final Resolution for Pemphigus Patients: Clinical Report From a Single Center Study. *Front Immunol* 2022 ; 13 : 884931.
3. Franz H, Rathod M, Zimmermann A, *et al.* Unbiased screening identifies regulators of cell-cell adhesion and treatment options in pemphigus. *Nat Commun* 2024 ; 15 : 8044.
4. Jennings JM, Tucker DK, Kottke MD, *et al.* Desmosome Disassembly in Response to Pemphigus Vulgaris IgG Occurs in Distinct Phases and Can Be Reversed by Expression of Exogenous Dsg3. *J Invest Dermatol* 2011 ; 131 : 706-18.
5. Nguyen VT, Ndoye A, Shultz LD, *et al.* Antibodies against keratinocyte antigens other than desmogleins 1 and 3 can induce pemphigus vulgaris-like lesions. *J Clin Invest* 2000 ; 106 : 1467-9.
6. Matsumura T, Suzuki T, Aizawa K, *et al.* The Deacetylase HDAC1 Negatively Regulates the Cardiovascular Transcription Factor Krüppel-like Factor 5 through Direct Interaction. *J Biol Chem* 2005 ; 280 : 12123-9.
7. Zheng B, Han M, Shu Y, *et al.* HDAC2 phosphorylation-dependent KIf5 deacetylation and RARα acetylation induced by RAR agonist switch the transcription regulatory programs of p21 in VSMCs. *Cell Res* 2011 ; 21 : 1487-508.
8. Tao R, Zhang B, Li Y, *et al.* HDAC-mediated deacetylation of KLF5 associates with its proteasomal degradation. *Biochem Biophys Res Commun* 2018 ; 500 : 777-82.
9. Subramanian S, Bates SE, Wright JJ, *et al.* Clinical Toxicities of Histone Deacetylase Inhibitors. *Pharmaceuticals* 2010 ; 3 : 2751-67.
10. Mueller L, Hatzfeld M, Keil R. Desmosomes as Signaling Hubs in the Regulation of Cell Behavior. *Front Cell Dev Biol* 2021 ; 9 : 745670.